

Учреждение образования  
«Гомельский государственный университет  
имени Франциска Скорины»

**И. И. КОНЦЕВАЯ**

**МИКРОБИОЛОГИЯ:  
ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ИЗМЕНЧИВОСТИ  
У БАКТЕРИЙ**

Практическое пособие

для студентов  
специальностей 6-05-0511-01 «Биология»,  
6-05-0113-03 «Природоведческое образование (биология, химия)»

Гомель  
ГГУ им. Ф. Скорины  
2026

УДК 579(076)  
ББК 28.4я73  
К653

Рецензенты:

кандидат биологических наук С. Н. Самусева,  
кандидат химических наук Н. И. Дроздова

Рекомендовано к изданию научно-методическим советом  
учреждения образования «Гомельский государственный  
университет имени Франциска Скорины»

**Концевая, И. И.**

К653 Микробиология: генетические механизмы изменчивости у  
бактерий : практическое пособие / И. И. Концевая ; Гомельский гос.  
ун-т им. Ф. Скорины. – Гомель : ГГУ им. Ф. Скорины, 2026. – 41 с.  
ISBN 978-985-32-0158-1

Практическое пособие ставит своей целью оптимизировать учебно-познавательную деятельность студентов по усвоению материала темы «Генетические механизмы изменчивости у бактерий». Рассматриваются вопросы: характеристика генетического аппарата бактерий, мобильные генетические элементы, мутации, основные механизмы горизонтального переноса генетического материала у бактерий. Издание может быть использовано как на лабораторных занятиях по соответствующим темам курса «Микробиология», так и для самостоятельной подготовки по разделу «Генетика бактерий».

Адресовано студентам специальностей 6-05-0511-01 «Биология», 6-05-0113-03 «Природоведческое образование (биология, химия)».

УДК 579(076)  
ББК 28.4я73

**ISBN 978-985-32-0158-1**

© Концевая И. И., 2026  
© Учреждение образования  
«Гомельский государственный университет  
имени Франциска Скорины», 2026

# ОГЛАВЛЕНИЕ

Предисловие.....	4
1 Генетические механизмы изменчивости у бактерий.....	5
1.1 Характеристика генетического аппарата бактерий.....	5
1.1.1 Плазмиды.....	8
1.2 Мутации.....	11
1.3 Мобильные генетические элементы.....	14
1.3.1 IS-элементы.....	15
1.3.2 Транспозоны.....	17
1.3.3 Бактериофаг $\mu$ .....	19
1.3.4 Интегроны.....	19
1.3.5 Геномные острова.....	20
1.3.6 Выводы.....	23
1.4 Способы горизонтального переноса генов у бактерий.....	25
1.4.1 Трансформация.....	26
1.4.2 Конъюгация.....	29
1.4.3 Трансдукция.....	35
Практическое занятие.....	39
Литература.....	41

## ПРЕДИСЛОВИЕ

Микробиология является одной из фундаментальных биологических дисциплин. Знание микробиологии необходимо высококвалифицированному специалисту-биологу для формирования мировоззрения об огромной роли микроорганизмов в природе и в жизни человека.

На лабораторных занятиях при изучении тем «Генетические механизмы изменчивости у бактерий» студенты знакомятся с характеристикой генетического аппарата бактерий (организацией генома, классификацией генов, генетическими картами, плазмидами), понятием «мутации», мобильными генетическими элементами (инсерционными последовательностями, транспозонами, интегронами и др.), тремя основными механизмами переноса генетического материала у бактерий (трансформацией, трансдукцией, конъюгацией). На занятиях студенты заполняют протокол по способам горизонтального переноса генов у бактерий.

Материал занятия начинается с плана, включает изложение теоретической части и вопросы, которые можно использовать для текущего контроля усвоения знаний студентами, а также для самоконтроля. Далее перечисляются материалы, необходимые на занятии, ставится цель занятия, перечисляются задания для самостоятельной работы студентов на лабораторном занятии. Результаты наблюдений студенты оформляют в виде протокола.

Изложение материала построено в соответствии с программой курса. Студенты, отработавшие лабораторные занятия, приобретают достаточную теоретическую подготовку и навыки, необходимые в практической работе и при выполнении экспериментальных исследований.

Целью практического пособия является оказание помощи студентам в овладении теоретическими основами микробиологии по разделу «Генетика бактерий». Материал пособия делает процесс обучения более эффективным и способствует повышению его качества.

# 1 ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ИЗМЕНЧИВОСТИ У БАКТЕРИЙ

- 1.1 Характеристика генетического аппарата бактерий.
- 1.2 Мутации.
- 1.3 Мобильные генетические элементы.
- 1.4 Способы горизонтального переноса генов у бактерий.

## 1.1 Характеристика генетического аппарата бактерий

**Организация генома.** Генетический аппарат бактерий представлен бактериальной хромосомой, внехромосомными факторами наследственности – плазмидами, а также входящими в их состав мобильными генетическими элементами (рисунок 1).

Жизненно важная генетическая информация бактерий сосредоточена в располагающейся непосредственно в цитоплазме единственной хромосоме (нуклеоиде), что позволяет отнести бактерии к гаплоидным организмам. Возможны некоторые исключения, например, *Vibrio cholerae* содержит две кольцевидные хромосомы размером 2,7 и 1,1 x 10<sup>6</sup> п. н.

Хромосомная ДНК бактериальной клетки, как правило, замкнута в кольцо, что доказывается с помощью метода радиоавтографии. Эта замкнутая в кольцо молекула ДНК включает несколько тысяч генов, расположенных линейно, и называется **хромосомой**. С 1989 года появились данные, которые свидетельствуют, что имеются микроорганизмы с линейной хромосомой (например, некоторые виды актиномицетов).

ДНК в хромосоме суперспирализована; ее размер в раскрученном состоянии может достигать 1 мм. ДНК состоит из двух комплементарных друг другу цепочек: напротив аденина одной цепочки в другой находится тимин, напротив гуанина – цитозин. Цепи антипараллельны и располагаются во взаимно противоположных направлениях: одна в ориентации 5' → 3', другая – 3' → 5'. На 5' конце ДНК находится фосфатная группа, прикрепленная к 5-ому углеродному атому дезоксирибозы. 3' конец оканчивается ОН-группой, присоединяющейся к 3-ему углеродному атому дезоксирибозы.

В геноме разных видов бактерий содержание нуклеотидов варьирует от 5,8 x 10<sup>5</sup> до 13,0 x 10<sup>6</sup> п. н., что соответствует приблизительно 10<sup>3</sup> генов (1 ген на 1 000 п. н.). Это в 100 раз больше, чем у вирусов, и в 1 000 раз меньше, чем в среднем у эукариот. Самый маленький

геном среди бактериальных патогенов имеют бактерии *Mycoplasma genitalium* ( $0,58 \times 10^6$  п. н.), содержащие минимальный набор генов, необходимых для выживания.



Рисунок 1 – Устройство генетического аппарата бактерий

Несмотря на весьма значительную разницу в сложности организации фенотипа прокариот и эукариотических организмов, различие в количестве генов мало. Для объяснения этого феномена в последнее время получила развитие концепция сетевых взаимодействий: дело не в различии в количестве генов, а в сложности генетических сетевых взаимодействий.

Ранее сходство микроорганизмов и их принадлежность к одному роду оценивали по содержанию ГЦ-пар (в %), которое может варьировать от 29 % у *Borrelia burgdorferi* и до 67 % у *Pseudomonas aeruginosa*. Расшифровка последовательности нуклеотидов в геноме большинства патогенов позволяет использовать **первичную структуру ДНК** для оценки родства различных видов микроорганизмов. Как правило, бактерии одного рода и семейства проявляют сходство 70–80 % генетической информации, и только 20–30 % объема генома приходится на уникальную для вида или штамма генетическую информацию. Например, *Listeria monocytogenes*, вызывающие листериоз, имеют 270 генов, отвечающих за патогенность и не встречающихся у непатогенных *Listeria innocua*. *Yersinia pestis* – возбудители чумы – в отличие от *Yersinia pseudotuberculosis*, характеризуются присутствием большого количества IS элементов, встроенных в состав приблизительно 100 генов.

**Классификация генов.** Основной единицей наследственности, ответственной за формирование какого-либо элементарного признака, является ген, совокупность которых формирует генотип. В соответствии с международной номенклатурой, название генов происходит от кодируемых ими признаков и его сокращают тремя малыми буквами латинского алфавита. Аналогичные гены, присутствующие у разных видов микроорганизмов, обозначают путем добавления к названию заглавной буквы латинского алфавита (гены, контролирующие разложение лактозы у разных видов бактерий – lac Z, lac Y), аллельные варианты генов, встречающихся у представителей одного вида микроорганизмов, обозначают добавлением цифрового индекса, соответствующего порядковому номеру измененного нуклеотида (lacZ 195). Гены подразделяются на структурные и функциональные в зависимости от их роли в клетке.

**Структурные гены** детерминируют первичную структуру белков бактерий и могут быть классифицированы на две большие группы:

**1 Гены «домашнего хозяйства»:**

а) *гены, отвечающие за биохимические процессы в клетке* (метаболизм аминокислот, углеводов, энергии, липидов, ко-факторов и витаминов, сложных углеводов и липидов, нуклеотидов);

б) *гены, отвечающие за биологические процессы клетки* (подвижность клеток, обработку информации из внешней среды, транспорт веществ через мембраны, сигнальную трансдукцию, обработку генетической информации, репликацию и репарацию, развитие и деградацию, транскрипцию, трансляцию).

**2 Гены добавочных/вспомогательных функций:** а) вирулентности; б) устойчивости к антибиотикам; в) деградации редких субстратов (углеводородов нефти, ксенобиотиков, хлорфенолов и т. д.).

**В составе первичной структуры ДНК микроорганизмов могут находиться следующие компоненты:**

**1 Простые повторяющиеся последовательности (SSR)** – состоят из 2–6 нуклеотидов, которые могут много раз в tandemе повторяться, например, ЦАТ ЦАТ ЦАТ.

**2 CpG мотивы.** Богатые гуанином и цитозином последовательности нуклеотидов. Чаще встречаются в начале гена. Распознаются клеточными толл-подобными рецепторами (*toll-like receptor*) клеток иммунной системы. Обладают стимулирующим действием на В-лимфоциты, моноциты, макрофаги, дендритные клетки и опосредованно – на естественные киллеры. В геноме человека также встречаются CpG мотивы, но в метилированном состоянии, и потому они не обладают иммуностимулирующим эффектом.

Описание структурных компонентов генома и их функций получило название **аннотирование генома**, которое включает: определение границ, расположения, функций генов и механизмов их регуляции, положение промоторов, содержание Г + Ц-пар, положение CpG островков, геномных повторов, определение плотности генов, положения транспозонов, IS-элементов, тРНК и рРНК генов.

### 1.1.1 Плазмиды

**Плазмиды.** Генетические признаки микроорганизмов могут кодироваться не только бактериальной хромосомой, но и плазмидами.

*Плазмиды – это внехромосомные факторы наследственности, представляющие собой небольшие кольцевые двухцепочечные суперскрученные ковалентнозамкнутые молекулы ДНК, которые располагаются в цитоплазме и способны к автономной репликации.*

В качестве примера на рисунке 2 схематично представлена кольцевая F-плазида *E. coli* (половой фактор, F-фактор). Это плазида, обеспечивающая возможность конъюгации между бактериальными клетками. Как мы видим, длина F-плазмиды составляет 94,5 тысяч пар нуклеотидов (т. п. н.). В состав плазмиды входят: несколько IS-элементов, транспозон Tn 1000 (они взаимодействуют с аналогичными элементами бактериальной ДНК через сайтспецифическую рекомбинацию и встраиваются в неё в разных местах и направлениях в зависимости от локализации и направления бактериальных элементов), *tra*-оперон (объединяет *tra*-гены, ответственные за перенос), *гер*-оперон – структурные гены репликации, *ori V* – точка начала репликации, *par*-область – гены

*par*, контролирующие распределение плазмид между дочерними клетками при делении, рядом с областью *par* находится ген *pif*, продукт которого исключает развитие в клетке фагов ТЗ и Т7.

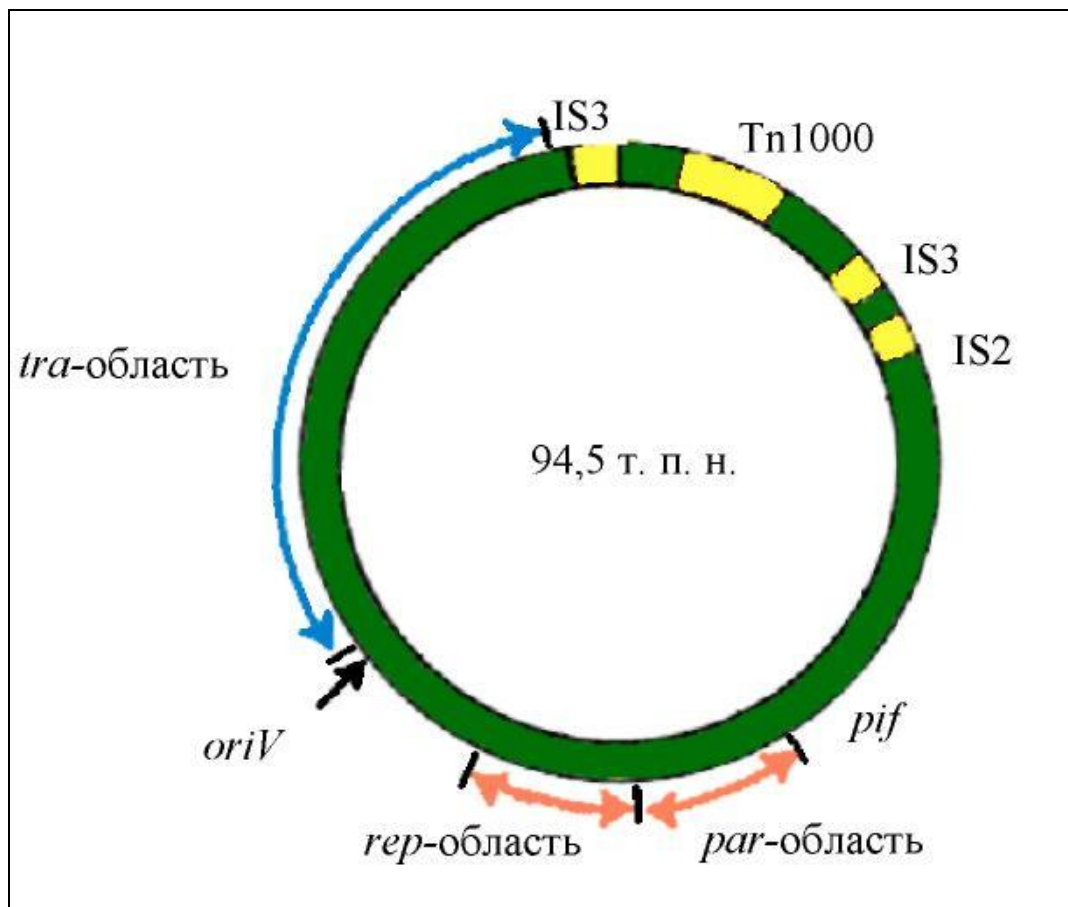


Рисунок 2 – F-плазмида *E. coli*: длина плазмиды составляет 94,5 тысяч пар нуклеотидов (т. п. н.). В состав плазмиды входят: несколько IS-элементов, транспозон Tn 1000, *tra*-оперон, *rep*-оперон, *ori V*, *par*-область, ген *pif*

В плазмидах закодирована информация, необходимая для репликации плазмид в бактериях, а также информация о дополнительных признаках, сообщающих бактериям преимущества в тех или иных условиях обитания и в стрессовых ситуациях.

В одной клетке может быть несколько плазмид, совокупность которых называют *плазмотипом*. Например, *Borrelia burgdorferi B31* содержит 17 плазмид общим размером сравнимым с геномным –  $0,53 \times 10^6$  п. н. (против  $0,91 \times 10^6$  п. н. в геноме). Плазмиды могут интегрировать в бактериальную хромосому, тогда их называют *эписомами*. Репликация плазмид начинается со связывания с итероном (место старта репликации), инициирующего репликацию белка.

**Плазмиды классифицируют** на несколько групп в зависимости от:

**1 Размера:** большие, средние, малые (космиды).

**2 Способности вызывать конъюгацию бактерий:** 1) конъюгативные, которые имеют относительно большие размеры и содержат информацию, необходимую для автономной репликации и переноса ДНК реципиенту; 2) неконъюгативные, которые не способны запускать конъюгацию; они могут передаваться реципиенту при наличии в клетке конъюгативных плазмид в результате мобилизации.

**3 Способности к репликации в одной клетке:** совместимые и несовместимые.

**4 Кодированного фенотипического эффекта:**

а) фертильности – F-плазмиды;

б) бактериоциногении – Col-плазмиды (ColE1, ColE2). Кодировать продукцию бактериоцинов, обладающих бактерицидным действием в отношении близкородственных видов микроорганизмов. Встречаются у представителей нормальной микрофлоры человека с частотой 1:1000 клеток;

в) резистентности – R-плазмиды (рисунок 3).

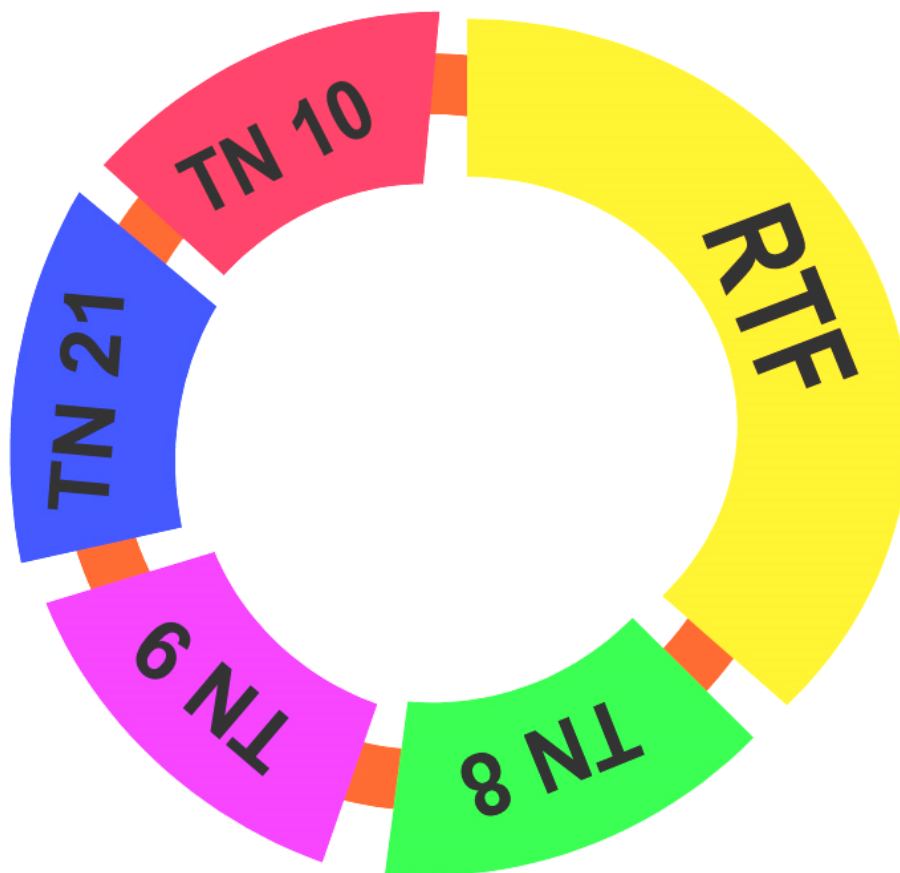


Рисунок 3 – Структура плазмиды множественной резистентности

Обуславливают устойчивость или множественную устойчивость к антибиотикам, солям тяжелых металлов, УФ излучению (плазмиды R100, RP 4). Как правило, являются конъюгативными. Состоят из двух участков: 1) фактора переноса устойчивости, или RTF, содержащего гены репликации и переноса в клетку реципиента; 2) R-детерминанты, содержащей гены или Tn резистентности;

г) вирулентности (плазмиды LT2, K88). Кодируют продукцию энтеротоксинов, фимбрий;

д) биодеградации – D-плазмиды. Обеспечивают расщепление сложных субстратов (углеводородов нефти, ксенобиотиков и т. д.);

е) криптические. Фенотипический эффект не установлен.

Плазмиды участвуют в генетических перестройках, обеспечивают горизонтальный перенос генов, их используют в качестве векторов в генной инженерии.

## 1.2 Мутации

Термин «мутации», обозначающий «скачкообразное изменение наследственных признаков», ввел Де Фриз, изучавший изменчивость и наследственность у растений. Позднее М. В. Бейеринк распространил это понятие на бактерии.

В настоящее время **мутации** рассматривают как **любое стабильное наследуемое изменение ДНК**. В популяции бактерий в процессе ошибок репликации постоянно возникают мутации, которые приводят к появлению **аллелей** генов.

Если условия микроокружения создают селективное преимущество мутирующему микроорганизму, то благодаря быстрому размножению, он становится преобладающим в популяции. Некоторые штаммы характеризуются повышенной частотой мутаций, связанной с нарушением систем репарации. Такие штаммы получили название **мутаторов**.

Впервые они описаны в 1950 году. Мутаторы важны в процессе видообразования микроорганизмов.

Однако, мутаторы не только с высокой частотой мутируют, но и обмениваются генами, тем самым затормаживают процессы дивергенции микроорганизмов.

Мутации классифицируют в зависимости от ряда факторов: причин возникновения, последствий, направленности, локализации, типов замен нуклеотидов (рисунок 4).



Рисунок 4 – Классификация мутаций

Выделяют следующие **типы мутаций**:

**1 По причинам возникновения: спонтанные и индуцированные.**

**Спонтанные** мутации регулярно возникают в популяции бактерий без экспериментального вмешательства. Их возникновение в естественных условиях происходит с частотой  $10^{-6}$ – $10^{-9}$  и связано с присутствием низких концентраций мутагенов в окружающей среде. Большинство спонтанных мутаций формируются во время репликации генома вследствие случайных ошибок при включении нуклеотидов в ДНК.

**Пример механизма замены.** Тимин, обычно находящийся в оксоформе и взаимодействующий с аденином, при таутомерном перемещении электронов может переходить в енольную форму, в которой он взаимодействует с гуанином. В результате в новой молекуле ДНК на месте пары А–Т появляется пара G–С.

**Индукцированные** мутации возникают под действием мутагенов; образовавшиеся клетки называют индуцированными мутантами. Мутагенами могут быть **химические агенты** (нитрит, алкилирующие агенты, акридиновые красители, этиленимин, азотистый или серный иприт и т. д.), **физические** (ультрафиолетовые лучи – 260 нм, ионизирующее излучение) или **биологические** (бактериофаги, транспозоны и т. д.). Под действием мутагена частота мутаций увеличивается и составляет  $10^{-5}$ – $10^{-3}$  (одна мутация появляется при репликации 1 000–100 000 генов).

## 2 По локализации: хромосомные, плазмидные и генные.

**Хромосомные** – мутации, приводящие к крупным перестройкам. При этом гены или их группы могут быть утрачены (делеция), перемещены в пределах хромосомы (транспозиция) или «разорваны» путем вставки посторонней ДНК (инсерция), удвоены (дупликация). За некоторым редким исключением, ревертанты не появляются. **Геномные** мутации отсутствуют у бактерий, в связи с наличием у них только одной хромосомы.

**Плазмидные.** Происходят в плазидах и по типу перестроек аналогичны хромосомным.

**Генные** – мутации, приводящие к изменениям в пределах одного гена. К ним относятся: а) точечные мутации; б) микроделеции/микроинсерции:

а) **точечные** мутации сопровождаются заменой одного нуклеотида и являются наиболее распространенной группой мутаций у прокариот. Происходят в процессе репликации генома и нередко приводят к появлению мутантного белка. Характерна высокая частота реверсии. В зависимости от происходящих замен нуклеотидов **точечные мутации** могут подразделяться на **транзиции** и **трансверзии** (рисунок 5).

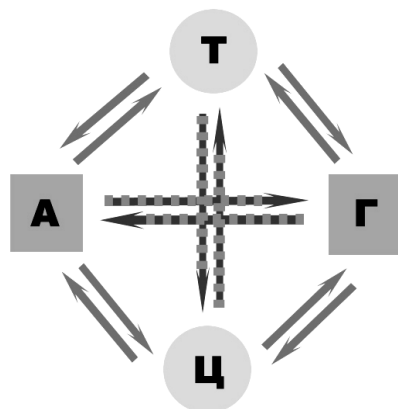


Рисунок 5 – Транзиции ( $A \leftrightarrow G$  и  $T \leftrightarrow C$ ) и трансверзии ( $A \leftrightarrow T$ ,  $T \leftrightarrow G$ ,  $G \leftrightarrow C$ ,  $C \leftrightarrow A$ )

**Транзиции** сопровождаются заменой пуринового основания на пуриновое, или пиримидинового на пиримидиновое. **Трансверзии** сопровождаются заменой пуринового основания на пиримидиновое или наоборот.

В зависимости от последствий, **точечные мутации** могут быть **молчащими, миссенс, нонсенс**.

**Молчащие (синонимичные) мутации**, несмотря на замену нуклеотида, не приводят к изменению кодируемой аминокислоты, что связано с вырожденностью (избыточностью) генетического кода, когда одна аминокислота кодируется несколькими триплетами. Молчащие мутации преимущественно происходят в третьем нуклеотиде кодона.

**Миссенс (несинонимичные)** мутации приводят к замене нуклеотида и кодируемой аминокислоты, что, нередко, сопровождается изменением функциональной активности белка – активацией его или инактивацией.

**Нонсенс мутации** сопровождаются формированием стоп-кодона, или стоп-сигнала с последующей терминацией трансляции и появлением неполноценного белка с меньшей последовательностью аминокислот;

**б) микроинсерции или микроделеции** – генные мутации, сопровождающиеся включением дополнительной пары оснований в ДНК/РНК или их утратой. Последствием вставки или выпадения одного нуклеотида является **сдвиг рамки считывания белков**, что приводит к изменению группировки триплетов, неправильному прочтению триплетов и синтезу пептида с новым составом аминокислот. Ревертанты редки.

### **3 По направленности: прямые и обратные.**

**Обратные** мутации возникают в мутированном гене и восстанавливают исходный фенотип.

**Истинные обратные мутации** – мутации, возникающие в мутированном триплете и точно восстанавливающие исходный генотип. Измененный при первой мутации триплет будет вновь кодировать ту же аминокислоту, что и раньше.

**Реверсии (супрессорные) мутации** – мутации, восстанавливающие исходный фенотип. Супрессорные мутации могут происходить как в исходном гене, так и в каких-либо других участках хромосомы (*интрагенные* и *экстрагенные* супрессорные мутации).

### **Выделение мутантов**

Для выделения мутантов используют методы позитивной и негативной селекции.

**1 Позитивная селекция.** Используют селективную среду, на которой растут только мутантные колонии. Например, для поиска резистентных к пенициллину мутантов используют среду с пенициллином.

**2 Негативная селекция.** Используется для выявления мутантов, утративших признаки (ауксотрофы) по сравнению с родительскими клетками (прототрофными). Ауксотрофные мутанты утрачивают способность синтезировать жизненно важные нутриенты. Для их выявления используют метод реплик и минимальные питательные среды.

## **1.3 Мобильные генетические элементы**

Мобильные генетические элементы (мигрирующие, прыгающие гены) – участки ДНК, способные к транспозиции, или случайному

перемещению, из одного места в другое: в пределах одной молекулы ДНК, из одной ДНК в другую. Не способны к самостоятельной репликации. Размножаются в составе бактериальной хромосомы или плазмид.

К подвижным генетическим элементам относятся: IS-элементы, транспозоны, бактериофаги, интегроны, геномные острова.

Транспозиция обеспечивается ферментом – **транспозазой** (tnp). Ген, кодирующий этот фермент, входит в состав всех мобильных генетических элементов. Транспозаза обладает эндонуклеазной и лигазной функцией: она распознает и разрезает ДНК по краям мобильного генетического элемента (эндонуклеазная функция) и сшивает его с разрывом ДНК в новом месте (лигазная функция). В некоторых случаях транспозиция сопровождается удвоением мобильных генетических элементов и перемещением копии в другое место.

### 1.3.1 IS-элементы

**Инсерционные последовательности, или IS-элементы** (*insertion sequences*) являются одними из самых простых мобильных генетических элементов бактериальных хромосом и плазмид. Они не несут в своем составе структурные гены, а только гены, отвечающие за перемещение. Многообразие IS-элементов обозначают цифровыми индексами – IS1, IS 6 010. Их размер меньше, чем транспозонов, и составляет от 700 до 1 800 п. н., но описаны IS-элементы более крупных и мелких размеров – 5 700 п. н. и 200 п. н. В геноме бактерий присутствует, как правило, небольшое количество их копий: в геноме *E. coli* IS1 встречается в 6–10 копиях, а IS2 – в 5 копиях.

Центральную часть IS-элемента занимает ген, кодирующий транспозазу; некоторые IS-элементы несут промоторы или репрессоры генов, или их части. На обоих концах IS-элемента находятся повторяющиеся последовательности или палиндромы, размером 10–40 п. н. (рисунок 6), по которым транспозаза распознает его и вырезает.

5'AGAACA	ген, кодирующий транспозазу (ген tnp)	TGTTCT3'
3' TCTTGT		ACAAGA 5'

Рисунок 6 – Один из примеров структуры IS-элемента

**ДНК-палиндромная последовательность нуклеотидов** (*palindrome*) (обозначаемых как А, Т, С или G) возникает, когда комплементарные

нити ДНК читаются одинаково в обоих направлениях либо с 5' конца, либо с 3' конца. Например, последовательность 5'-GAATTC-3' на одной нити ДНК считается палиндромом, поскольку последовательность на ее комплементарной нити – 3'-CTTAAG-5'. Функциональные палиндромные последовательности встречаются как в кодирующей, так и в некодирующей ДНК. Некодирующие палиндромы выполняют разнообразные функции: от иммунных реакций до регуляции генов. Геномные механизмы, использующие палиндромы, были адаптированы для манипулирования ДНК и открыли новые перспективы в науке и практике. Геномные инвертированные повторы обычно не являются идеально симметричными либо из-за различий по крайней мере одной пары оснований в повторяющихся последовательностях, либо из-за непалиндромных спейсерных последовательностей, которые расположены между повторами. Поэтому в литературе предлагается использовать термин «палиндромный» в смысле «подобный палиндрому» для геномных палиндромов.

Транспозиция IS-элемента происходит двумя путями: 1) консервативным: покидая один участок IS-элемент встраивается в другой; 2) репликативным: синтезируется копия, которая встраивается в другой участок генома. Встраивание, как правило, осуществляется в участках богатых A/T.

IS-элементы могут перемещаться из одного участка генома в другой, например, из бактериальной хромосомы в плазмиду или от плазмиды к плазмиде, могут встраиваться в пределах одного гена и инактивировать его или изменять его регуляцию, могут передаваться между организмами, находясь в составе фагов, плазмид, интегративных конъюгативных элементов.

Описаны частично деградированные IS-элементы, которые способны к перемещению по геному за счет активности других, интактных, IS-элементов. Такие элементы называются *MITE* элементами (*miniature inverted repeat transposable elements*, *миниатюрные перевернутые повторяющиеся мобильные элементы*, MITE).

#### **Значение IS-элементов:**

1 Являются генетическими маркерами вида или рода бактерий. Некоторые IS последовательности специфичны для определенных видов микроорганизмов, что позволяет их использовать для видовой идентификации бактерий.

2 Участвуют в мутационной изменчивости микроорганизмов. IS-элементы могут повышать частоту инверсий и делеций в прилегающих к ним участках генома. В результате инсерция IS-элементов в бактериальную ДНК приводит к синтезу неполноценного белка. IS-элементы

способны вызвать транслокации. С меньшей частотой ( $10^{-3}$ – $10^{-4}$ ) IS-элементы приводят к делециям в прилегающих генах: располагаясь рядом и покидая ДНК, они могут вырезать и перенести заключенную между ними ДНК хозяина.

3 IS-элементы играют существенную роль в вариабельности генома. Они могут накапливаться в значительном количестве в геноме, а события рекомбинации между ними часто приводят к удалению геномных фрагментов, что, по-видимому, играет важную роль в уменьшении размера генома видов, перешедших к паразитическому образу жизни. Встраивание данных элементов в гены может приводить к потере их функциональности, что в ряде случаев может увеличивать приспособленность организма, например, вследствие изменения антигенных детерминант у патогенных микроорганизмов.

4 IS-элементы могут оказывать эффект и на экспрессию генов, расположенных с ними поблизости. Это связано с наличием в их составе промоторов или репрессоров генов или их компонентов, которые влияют на инициацию транскрипции бактериальных генов. Например, формирование резистентности к метронидазолу у анаэробных микроорганизмов связано с активацией молчащих *him A, B, C, D, E* генов в результате встраивания IS-элементов, несущих промоторы этих генов.

5 IS-элементы при транспозиции могут попасть в регуляторную или кодирующую части гена и вследствие этого инактивировать его или нарушить его нормальную регуляцию.

6 Являются местом распознавания и встраивания плазмид и генно-инженерных векторов. Плазмиды и генно-инженерные векторы встраиваются в бактериальную хромосому в области IS последовательностей.

### 1.3.2 Транспозоны

**Транспозоны (Tn-элементы).** Это разновидность мобильных генетических элементов, которые содержат в своем составе один или несколько структурных генов и гены, ответственные за перемещение.

*Структурными генами* могут быть: а) гены устойчивости к антибиотикам, позволяющие бактериальной клетке выживать в присутствии соответствующих антибиотиков; б) гены устойчивости к тяжелым металлам и другим ядам, позволяющие бактерии выживать при их наличии в среде обитания; в) гены токсинов, снижающие жизнеспособность хозяев; г) гены, позволяющие бактериям использовать нетрадиционные субстраты; д) другие гены. По наличию таких генов транспозоны легче обнаружить, чем IS-элементы.

Транспозоны обозначают Tn с числовым индексом, например, Tn 1, Tn 2, ... Tn100, Tn 1002 и т. д. Их размер больше IS-элементов и составляет свыше 2000 п. н. Как и IS-элементы, транспозоны на обоих концах имеют прямые или инвертированные концевые повторы (ITR), которыми часто служат IS-элементы. По этим повторам транспозаза распознает их и вырезает.

Частота транспозиций Tn сравнима с частотой мутаций.

**В зависимости от структуры выделяют два класса транспозонов:**

**1 Сборные** (Tn 5, 9, 10, 903 и 1681). Состоят из фенотипического модуля (гены резистентности) и двух располагающихся по краям IS-элементов, ориентированных в одном или противоположных направлениях. IS-элементы обеспечивают перемещение транспозонов, но могут покидать его и перемещаться самостоятельно.

Tn10 (рисунок 7), имеющий по краям две копии IS10, подвергается переносу с частотой  $10^{-7}$ . Этот транспозон встраивается преимущественно в участках с последовательностью GCTNAGC (при встраивании этот участок удваивается), как правило, полностью безошибочно вырезается, но в некоторых случаях в процессе эксцизии может захватывать из бактериальной хромосомы дополнительно 50 п. н.

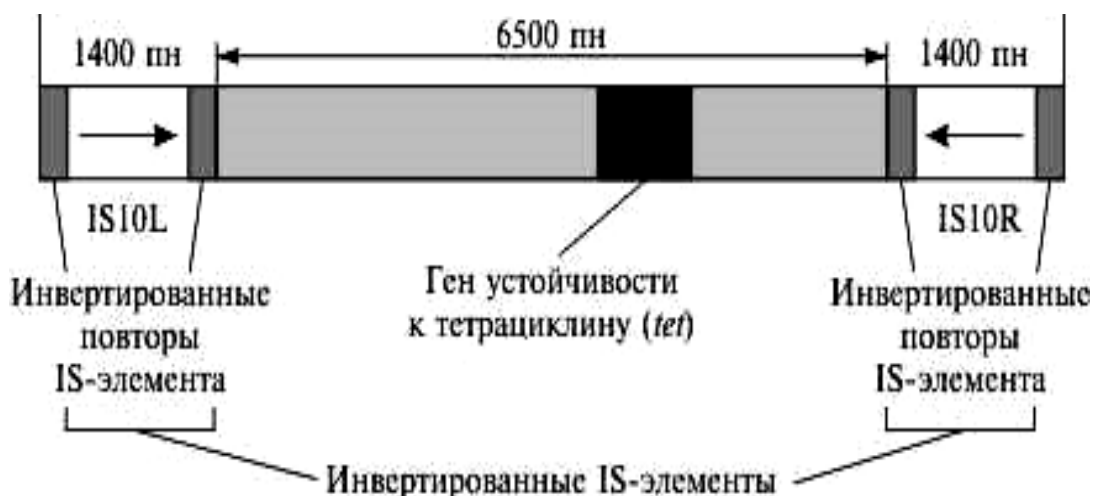


Рисунок 7 – Схема строения сложного транспозона Tn10: центральный район, несущий ген или гены устойчивости к тетрациклину, фланкирован прямыми или инвертированными IS-элементами.

В свою очередь, IS-элементы имеют собственные терминальные инвертированные повторы

**2 Комплексные** (Tn 1, 3, 4, 7, 501 и 551). Состоят из фенотипического модуля (гены резистентности) и располагающихся по краям не прямых повторов размером 30–40 п. н. Функционируют как единое и неделимое целое.

Частота транспозиций комплексных транспозонов составляет  $10^{-4}$ – $10^{-6}$ . Большинство из них при встраивании проявляют сайт-специфичность: Tn7, например, имеет только один участок встраивания в хромосому *E. coli*. Некоторые транспозоны (Tn3) обеспечивают «иммунитет» клетки к встраиванию идентичных транспозонов.

**Перенос транспозонов** осуществляется консервативным или репликативным механизмом. Консервативный перенос происходит путем вырезания транспозона из одного участка и транспозицией в другой без увеличения количества копий, при этом участок ДНК, откуда вырезается транспозон, утрачивает свои функции.

При репликативном способе переноса синтезированная копия транспозона перемещается в новое место, при этом механизме увеличивается количество копий.

**Функции.** Транспозоны участвуют в регуляции активности генов, инактивируя их или активируя. Осуществляют горизонтальный перенос генов, например, вирулентности или резистентности, обуславливая распространение устойчивости к антибиотикам среди микроорганизмов.

### 1.3.3 Бактериофаг $\mu$

**Бактериофаг  $\mu$** , или **мутатор**, или *Ми*-подобный фаг – умеренный бактериофаг  $\gamma$ -протеобактерий, который помимо генов транспозиции/интеграции несет детерминанты сборки фаговых частиц и имеет внеклеточную форму существования, также относится к комплексным транспозонам. Этот самый сложно организованный транспозон содержит 38 000 п. н. и на его концах находятся инвертированные повторы размером 11 п. н. Он не имеет определенного сайта встраивания в бактериальную ДНК, в процессе вырезания из нее обычно захватывает участок размером 10 % своего размера.

Бактериофаг  $\mu$  часто используют в генетических исследованиях, так как в естественных условиях он не входит в состав бактериальных геномов и потому легко проводить его детекцию.

### 1.3.4 Интегроны

**Интегроны** – это специализированные системы приобретения генов в бактериальных геномах. Они достаточно широко распространены и встречаются примерно в 10–20 % прочитанных геномах. Как и ряд

других мобильных элементов, они могут участвовать в приобретении, экспрессии и распространении генов устойчивости к антибиотикам и факторов вирулентности.

Интегроны могут быть закодированы в хромосоме либо находиться в составе плазмид и транспозонов.

Интегроны – мелкие генетические элементы, содержат функциональную платформу, состоящую из гена интегразы (*intI1*) (который распознает и обеспечивает встраивание в сайт рекомбинации) и промотора интегразы (*P<sub>int</sub>*), необходимые для экспрессии гена интегразы и транскрипции перенесенных в интегрон генов, промотора кассеты (*P<sub>c</sub>*) и сайта рекомбинации *attI* бактериальной хромосомы.

Не содержат гены, отвечающие за транспозицию. Способны соединяться с кассетами генов, кодирующими резистентность и другие признаки, при этом генетические кассеты должны содержать обеспечивающие подвижность гены. *Кассеты* – кольцевые фрагменты ДНК, как правило состоящие из одного или нескольких генов, лишенных промоторной области. Кассеты также содержат сайт рекомбинации (*attC*). После встраивания, генная кассета становится функциональным геном. Уровень экспрессии кассет падает по мере удаленности от промотора, только первые из кассет экспрессируются, остальные можно отнести к кассетам «памяти». Интеграза также может случайным образом вырезать генные кассеты и реинтегрировать их на прежнее либо новое место в интегрене. Таким образом может происходить перестановка генных кассет с изменением уровня экспрессии встроенных генов. Такая перестановка может служить механизмом подобным простому типу памяти.

Кассеты, которые были полезны ранее, могут перемещаться в более отдаленные от промотора участки интегрона (например, за счет встраивания новых кассет), что приводит к снижению или прекращению их экспрессии, но не удалению из генома. При последующем возврате к прежним условиям внешней среды, эти кассеты могут подвергнуться процессу перестановки и оказаться вблизи промотора с последующей наработкой с них белков.

### 1.3.5 Геномные острова

К активным элементам горизонтального переноса генов следует отнести **геномные острова** (*genomic islands*, ГО).

Необходимо подчеркнуть, что понятие геномного острова не определено однозначно.

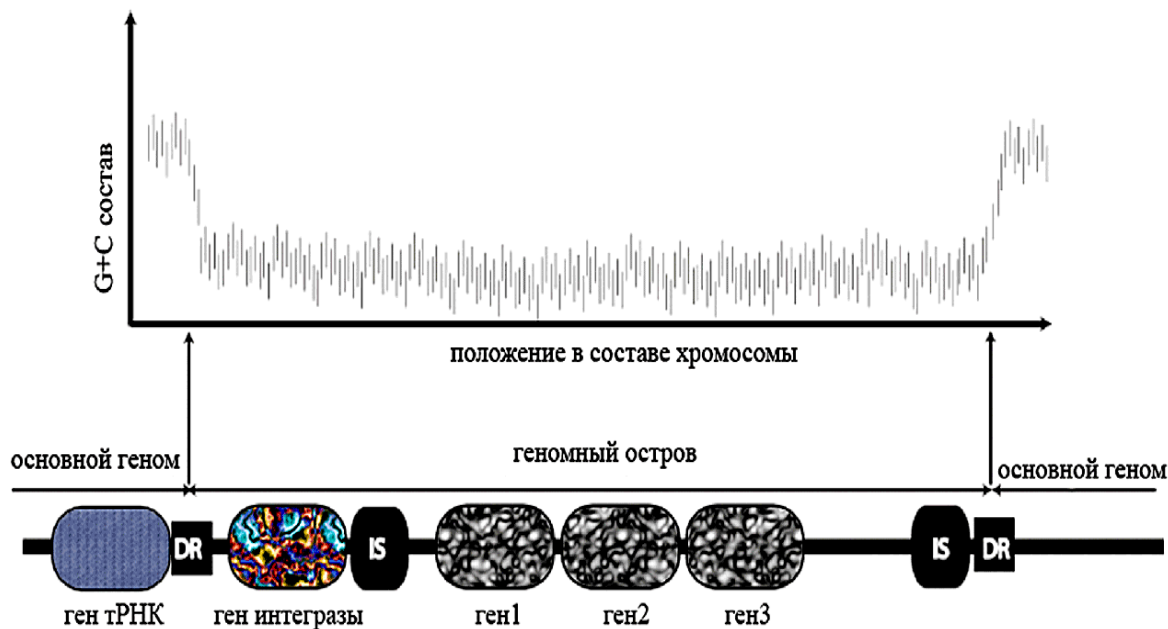
Как правило, геномные острова представляют собой гибридные структуры, собранные из разнообразных генов архей и бактерий разных фил, контролирующих одну или несколько близких функций, и полученных из разных мобильных элементов или модулей фагов, обеспечивающих внедрение в мишень. Вследствие этого ГО являются нередко источниками детерминант разных факторов вирулентности, а также могут включать блоки генов, детерминирующие целые метаболические пути, обуславливающие специфическую адаптацию бактерий.

Некоторые из геномных островов утратили гены мобильности, по-видимому, в результате различных перестроек и стали стабильными фрагментами бактериальных репликонов, отличающимися по G-C-составу от основных последовательностей генома.

Наличие геномных островов и их структурные особенности свидетельствуют о широком обмене генетическим материалом не только внутри отдельных видов бактерий, но и между систематически весьма далекими группами.

*Геномные острова* – сегменты ДНК, присутствующие в геноме одних штаммов и отсутствующие у других, даже близкородственных штаммов одного вида.

Строение «усредненного» ГО показано на рисунке 8.



DR – прямые повторы ДНК хромосомы, фланкирующие ГО;  
IS-инсерционные элементы

Рисунок 8 – Схематическое изображение структуры геномного острова в составе бактериальной хромосомы

Для геномных островов характерно:

- большие размеры: 10–500 т. п. н. (менее 10 т. п. н. – геномные островки (*genomic islets*));

- каждый геном имеет свою уникальную «геномную подпись»: его G+C состав существенно отличается от G+C состава хромосомы бактериальной клетки, что свидетельствует о чужеродном происхождении ГО, частоты тетрануклеотидов и использование кодонов;

- ассоциированы с генами тРНК на границе. Локусы тРНК могут представлять мишени для хромосомной интеграции этих элементов. Несут ген тирозиновой рекомбиназы (интегразы), обеспечивающей встраивание ГО в специфические районы хромосомы – гены тРНК. Именно избирательное встраивание ГО в 1–2 сайта хромосомы иногда помогает отличить его от «непривередливых» к месту интеграции конъюгативных транспозонов. Иногда ГО не содержат или утратили ген интегразы, в результате чего оказались «заякоренными» в хромосоме хозяина. Пример такого острова – SGI1, «подаривший» штамму *Salmonella enterica* sv. *typhimurium* DT104 множественную устойчивость к антибиотикам;

- обычно имеют в своей структуре гены, отвечающие за их мобильность. Предполагается, что некоторые геномные острова могут передаваться горизонтально за счет использования белков, закодированных в других мобильных элементах (плазмидах, фагах, интегративных конъюгативных элементов);

- часто фланкированы прямыми или инвертированными повторами, которые могут использоваться для вырезания острова. Для вырезания иногда требуется помощь собственного фермента эксцизназы или помощь инфицировавшего клетку бактериофага;

- часто содержат IS-элементы и транспозоны, участвующие в приобретении или устранении генетической информации в пределах острова, причем рекомбиназы этих мобильных генетических элементов могут использоваться и для интеграции/вырезания целого острова, например, ГО, обнаруженных на плазмидах pXO1 *Bacillus anthracis* и p33071 *Rhodococcus equi*;

- обычно геномные острова, как и другие мигрирующие элементы, нестабильны сами и придают нестабильность окружающим их последовательностям ДНК-мишени;

- играют важную роль в эволюции и адаптации бактерий к изменяющимся условиям среды обитания, кодируя факторы патогенности, симбиотического «стиля жизни», резистентности к тяжёлым металлам и антибиотикам, ферменты деградации ксенобиотиков и т. п. Геномные острова могут облегчать колонизацию экологической ниши, но, при изменении окружающей среды, те же самые острова могут проявлять

себя как истинные острова патогенности, способствуя развитию инфекционного процесса. Предполагается, что развитие паразитического способа существования у изначально сапротрофных свободноживущих микобактерий происходило с участием ГО. Именно на ГО Rv0986 локализованы гены, кодирующие способность *M. tuberculosis* прикрепляться к эукариотическим клеткам;

– наличие функционально значимых последовательностей в ГО послужило основанием к выделению их разных типов, например а) острова патогенности (рисунок 9); б) острова устойчивости к антибиотикам; в) симбиотические острова, выявленные у клубеньковых бактерий; г) метаболические острова. Приведенная классификация не отражает механизмы формирования или пути эволюции ГО, которые сайтспецифически интегрированы в геном хозяина;



Рисунок 9 – Функции островков патогенности

– последовательности ГО являются «горячими» областями рекомбинации, в которых происходит значительное количество различного типа перестроек. Эволюция ГО происходит, по-видимому, через мутации, внутригеномные перестройки, утрату и (или) приобретение новых функционально-значимых последовательностей и мобильных элементов. Геномные острова являются факторами модульной эволюции бактерий, что обуславливает возрастающий интерес к ним биотехнологов, медиков и экологов, и существенно повышает необходимость прогнозирования и отслеживания в режиме реального времени этих ключевых областей генома в ответ на изменения условий окружающей среды.

### 1.3.6 Выводы

На основании анализа литературных данных Р. Н. Мустафиным получены закономерности ключевой роли **мобильных генетических**

**элементов (МГЭ)** и входящих в их состав нуклеотидных последовательностей в эволюции всех живых организмов, что позволяет предположить, что МГЭ являлись первоначальными элементами, которые стали основой возникновения всех живых организмов:

1 Доказана возможность возникновения новых клеточных генов у прокариот из последовательностей МГЭ.

2 Доказана регуляторная роль МГЭ в обеспечении жизнедеятельности бактерий.

3 Получены многочисленные доказательства взаимопревращений вирусов и МГЭ в эволюции всех живых организмов. Кроме того, выявлены элементы, способные существовать как в виде вирусов, так и в виде МГЭ, обеспечивая в ряде случаев передачу адаптивных признаков хозяевам.

4 Доказано возникновение большей части регуляторных элементов в геномах эукариот от МГЭ.

5 Все сплайсосомные интроны произошли от МГЭ, их сохранение только в геномах эукариот обусловлено наличием в составе МГЭ повторов, использующихся для саморегуляции процессированными продуктами собственной транскрипции.

6 МГЭ служат важнейшими источниками альтернативных сплайсинговых вариантов, что необходимо для возникновения новых белков в эволюции.

7 МГЭ способствовали возникновению эукариот, при этом эндогенный паразитизм стал основой для консервативных свойств геномов их хозяев. От МГЭ произошли тандемные повторы и центромеры, в то же время от МГЭ произошел консервативный для эукариот центромер-связывающий белок, что говорит о значимости и универсальности свойства саморегуляции МГЭ в эволюции и позволяет предположить, что МГЭ служили первоначальными элементами, от которых произошли все последующие формы жизни на Земле. От МГЭ произошли теломеры и теломераза. Таким образом, благодаря МГЭ эукариоты приобрели способность к митозу и мейозу.

8 Образующие нкРНК (некодирующие РНК) используются при этом для регуляции экспрессии не только МГЭ, но и БКГ (белок-кодирующих генов), так как многие из них в эволюции либо произошли непосредственно от МГЭ, либо содержат их нуклеотидные последовательности благодаря экзонизации инсертированных элементов. Данные обстоятельства подтверждают универсальность свойств саморегуляции МГЭ, направленных на непрерывное самовоспроизведение биополимеров, что было ключевым обстоятельством, необходимым для возникновения жизни на Земле.

## 1.4 Способы горизонтального переноса генов у бактерий

Существует процесс **горизонтального переноса генов (ГПГ)**, при котором клетки приобретают чужеродный генетический материал.

На основе анализа геномов было установлено, что горизонтальный перенос часто встречается у прокариот и вероятно сыграл важную роль в их эволюции. Данный процесс обеспечивает и поддерживает сохранение разнообразия микробного мира, способствуя быстрой адаптации и выживанию бактерий в различных экологических нишах.

Горизонтальный перенос генов происходит у микроорганизмов, обитающих в схожих условиях среды, и возможен даже между отдаленными систематическими группами; позволяет быстро приобретать новые свойства. Кроме того, он приводит к стиранию границ между группами микроорганизмов, относящихся к разным таксономическим уровням. До 30 % генома бактерий может приобретаться за счет горизонтального переноса генов. Например, у *Escherichia coli* 18 % генов приобретены таким образом. Горизонтальный перенос генов часто осуществляется при участии мобильных элементов генома. Описаны отдельные случаи переноса генов между про- и эукариотами.

**Существуют три основных способа** горизонтального переноса генов у бактерий и архей: трансформация, конъюгация и трансдукция. Эти процессы отличаются друг от друга способом транспортировки ДНК. Могут происходить как естественным путем, так и при искусственных манипуляциях. Описаны и более экзотические способы: при помощи ДНК-содержащих мембранных везикул, передача ДНК при контакте бактерий с помощью синтезируемых ими нанотрубок, вирусоподобные агенты горизонтального переноса (*viruslike gene transfer agents, GTA*). В большинстве типов переноса, переносимая ДНК должна находиться в одноцепочечной форме, у *E. coli* также описаны механизмы переноса двухцепочечной ДНК.

**Общими особенностями для основных способов горизонтального переноса генов у бактерий являются:**

- 1 Процесс переноса ДНК всегда односторонний или однопольный: от донорных бактерий к реципиентным.
- 2 Полного обмена генетической информацией не наблюдается, результатом чего является образование мерозиготы (рисунок 10).

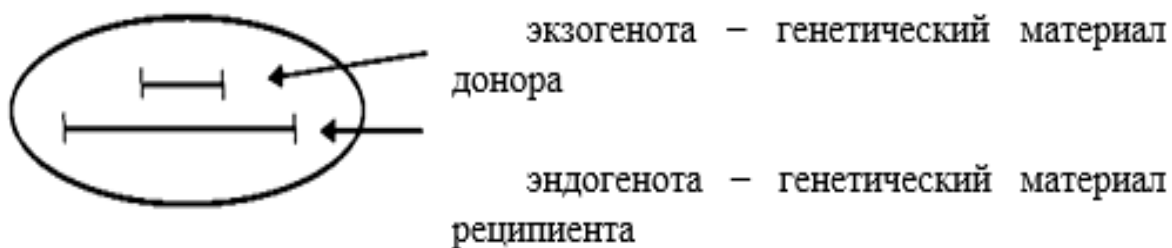


Рисунок 10 – Схема мерозиготы

Состояние мерозиготы носит относительно непродолжительный характер, в конечном итоге экзогенота должна встроиться в эндогеноту. Если этого не происходит, то экзогенота элиминирована эндонуклеазами клетки-реципиента.

3 Для образования рекомбинантного потомства процесс генетического переноса должен обязательно закончиться рекомбинацией. За рекомбинацией следует процесс репликации ДНК и деления клетки, в результате чего возникают клетки, содержащие только рекомбинантную хромосому, которые называются **рекомбинантами**.

### 1.4.1 Трансформация

**Трансформация** – разновидность рекомбинативной изменчивости микроорганизмов, сопровождающаяся переносом внеклеточной ДНК от донора к реципиенту через окружающую среду. В процессе трансформации ДНК-фрагмент погибшей и разрушенной бактерии встраивается в ДНК реципиента, находящегося в физиологическом состоянии, известном как компетентность. Впервые продемонстрирована в 1928 году Фредериком Гриффитом в опытах на пневмококках (*Streptococcus pneumoniae*). Описана как у грамположительных, так и грамотрицательных бактерий родов *Bacillus*, *Haemophilus*, *Neisseria*, *Escherichia*, *Pneumococcus*.

Искусственным путем трансформацию хромосомной ДНК удалось осуществить не только между бактериями одного и того же вида, но и между бактериями, принадлежащими к разным видам. Трансформировать клетки можно также и плазмидной ДНК.

Для осуществления трансформации необходимы следующие условия:

1 Наличие *небольшого* (до 20 генов) фрагмента *двухцепочечной* ДНК донорской клетки. Одноцепочечные или меньшего размера ДНК быстро разрушаются нуклеазами окружающей среды.

## 2 Наличие реципиента, находящегося в состоянии **компетентности**.

**Компетентностью** при генетической трансформации обычно называется способность бактериальных клеток адсорбировать и поглощать чужеродную ДНК. Однако в последние годы в это понятие включают и все последующие стадии, вплоть до рекомбинации трансформирующей ДНК с хромосомой реципиентной бактерии. Для поддержания состояния компетентности требуется активность нескольких десятков (20–50) белков, которые, как правило, высококонсервативны.

В естественных условиях захват ДНК клеткой-реципиентом осуществляется в фазу логарифмического роста, когда продуцируются специфические ДНК-связывающие белки, кодируемые *com*-генами. У некоторых бактерий клетки компетентны в любой фазе роста (например, у *Neisseria* и *Helicobacter*). К трансформации могут быть способны от 0,1 до 100 % клеток популяции, в зависимости от вида бактерий. В лабораторных условиях компетентность достигают путем обработки химическими веществами, например, добавлением  $\text{CaCl}_2$  в культуру.

**Компетентные клетки у различных видов бактерий отличаются** от некомпетентных не только способностью к поглощению ДНК, но и другими свойствами:

- обладают сниженным уровнем метаболизма;
- более устойчивы к пенициллину, чем остальные клетки в популяции;
- сниженным темпом репликации ДНК или вообще ее отсутствием;
- меньшими размерами, чем некомпетентные;
- изменением наружных слоев, наличием обнаженных участков цитоплазматической мембраны;
- повышенной чувствительностью к осмотическому шоку, тепловой обработке;
- сниженным поверхностным зарядом.

Однако существует много видов бактерий, у которых отсутствует естественная компетентность. Примером таких бактерий являются *E. coli* и другие, но, несмотря на это, они также могут быть трансформированы. Для этого их клетки обрабатывают тем или иным способом, индуцируя у них способность к поглощению ДНК.

### **Стадии трансформации (рисунок 11):**

1 Адсорбция донорной ДНК на поверхности реципиентной клетки. На этом этапе ДНК чувствителен к ДНКазе.

2 Поглощение донорной ДНК реципиентной клеткой. Причем ДНК может поглощаться только теми клетками, которые находятся в состоянии компетентности. На этой стадии ДНК уже нечувствительна к действию ДНКазы.

3 Образование в реципиентной клетке одностебельных фрагментов донорной ДНК.

4 Синапсис одноцепочечной донорной ДНК с двухцепочечной хромосомой реципиента.

5 Интеграция части донорной молекулы ДНК в реципиентную ДНК в результате гомологичной рекомбинации. Рекомбинация требует сходства между генетической информацией донора и реципиента и наличия генов бактериальной рекомбинации – *hcsA*, *B* и *C*. В редких случаях возможна рекомбинация между отдаленными видами. При отсутствии процесса рекомбинации фрагмент донорной ДНК подвергается расщеплению рестриктазами и далее используется как источник питательных веществ.

6 Репликация рекомбинантной молекулы ДНК.

7 Экспрессия генов, переданных от донора, т. е. образование рекомбинантов, называемых **трансформантами**. Количество переносимой при трансформации ДНК составляет около 10 т. п. н. (тысяч пар нуклеотидов).

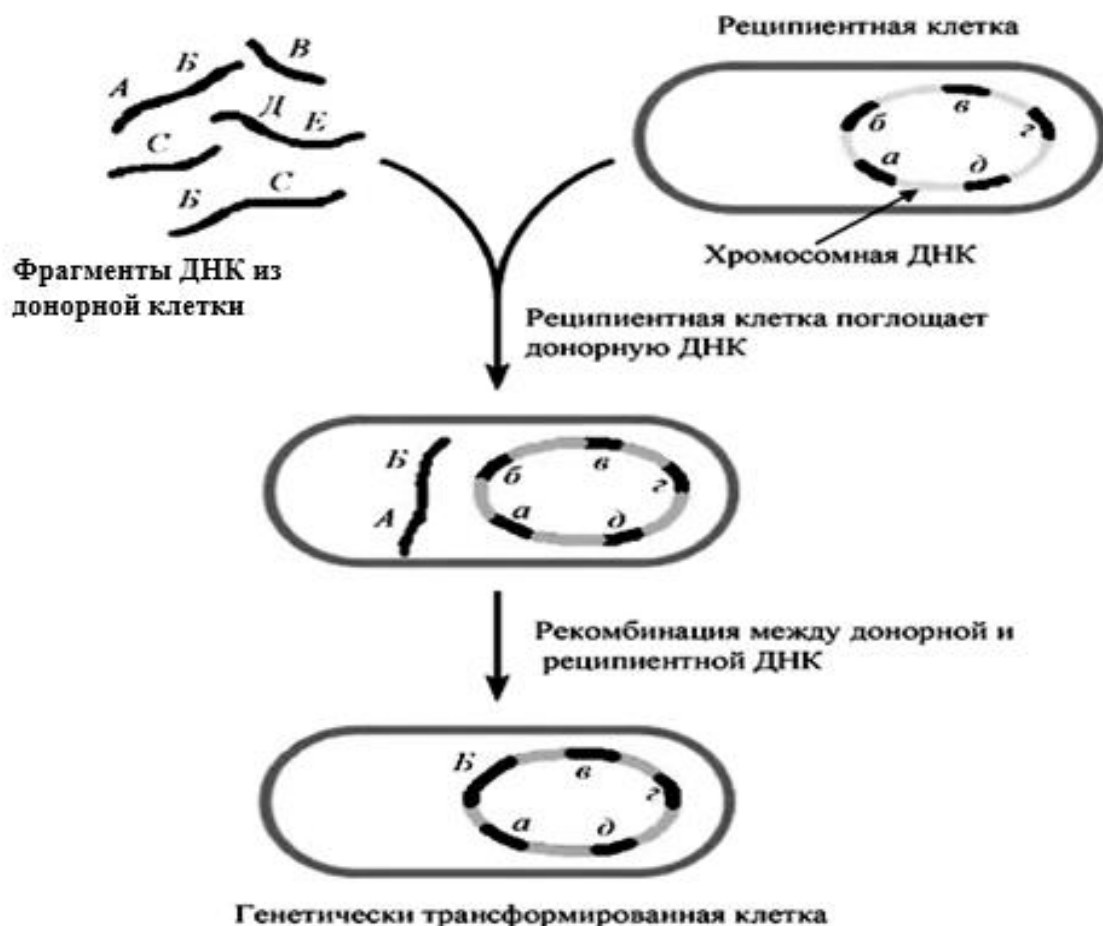


Рисунок 11 – Схема процесса трансформации

Интенсивность трансформации зависит от ряда факторов: от концентрации внеклеточной ДНК, от количества соседних компетентных клеток, степени нехватки ресурсов (стресса).

**Трансформация имеет практическое использование:**

- в естественных условиях приводит к усилению вирулентности;
- для конструирования промышленно-полезных штаммов микроорганизмов;
- для введения в геном бактерий определенных маркеров или элиминирования нежелательных мутаций;
- как один из этапов получения трансгенных растений;
- может выступать в качестве модели в различных генетических и молекулярно-биологических экспериментах на изолированной ДНК.

### 1.4.2 Конъюгация

**Конъюгация** – генетический обмен, сопровождающийся переносом генетической информации от клетки-донора к клетке-реципиенту, который осуществляется при их непосредственном контакте с образованием конъюгационного мостика. В естественных условиях происходит с частотой  $1:10^6$ .

**Явление конъюгации** было открыто Дж. Ледербергом и Э. Татумом в 1946 году в экспериментах с полиауксотрофными штаммами бактерий *E. coli*. Позднее У. Хейс показал, что существуют бактерии мужского (доноры) и женского (реципиенты) типа и вклад их в конъюгацию не равнозначен. Рекомбинанты наследуют большинство своих признаков от реципиента, а от донора получают только отдельные фрагменты генома.

**Для осуществления конъюгации необходимо выполнение следующих условий:**

**1 Наличие донора.** Донор отличается от реципиента присутствием полового **фактора F** (от *fertility* – плодовитость), представляющего автономно реплицирующуюся плазмиду (кольцевая двухцепочечная молекула ДНК с массой  $45 \times 10^6$  Да), содержащую около 25 генов, которые детерминируют: 1) процесс независимого от генома удвоения (репликации); 2) особые структуры клеточной поверхности – половые пили или **F-пили**, которые служат для взаимного узнавания при контакте донора и реципиента и образуют конъюгационный мостик.

**2 Наличие реципиента.** Не имеет плазмиды F.

Исход конъюгации и частота передачи хромосомных признаков зависят от физиологического состояния F фактора.

## Физиологические состояния F плазмиды (рисунок 12).

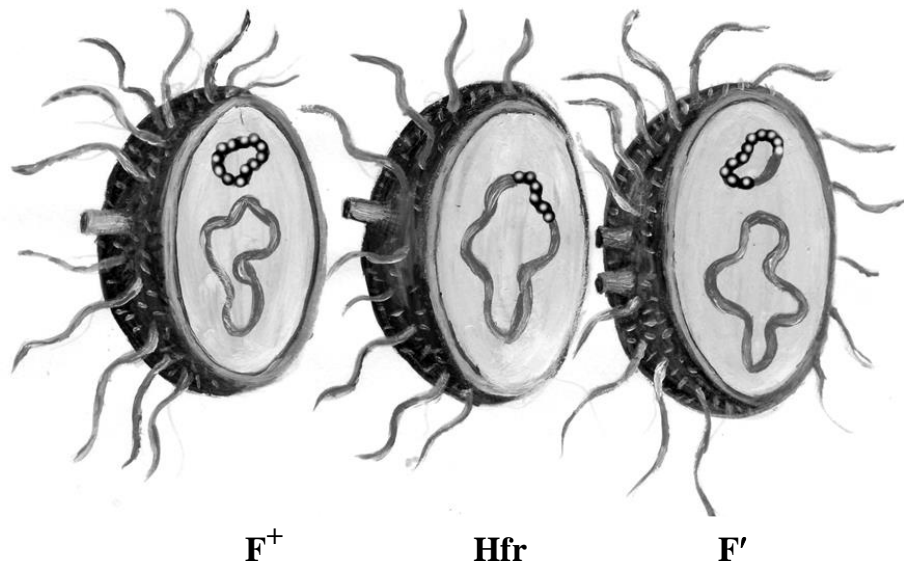


Рисунок 12 – Физиологические состояния F плазмиды

**1 Автономное  $F^+$ .** F фактор находится в цитоплазме в свободном состоянии, не интегрирован в бактериальную хромосому и не несет в своем составе хромосомные гены.

**2 Интегрированное** или ***Hfr***. F фактор может интегрироваться в определенных местах в бактериальную хромосому, и в таком состоянии носит название **энисомы**. Донорские клетки с интегрированным фактором F обеспечивают высокую частоту переноса хромосомной ДНК, они получили название **клеток *Hfr*** (от англ. *High frequency of recombinants*).

**3 Автономное  $F'$ .** Интегрированная F плаزمида может покидать бактериальную хромосому, захватывая близлежащие гены, таким образом превращаясь в  **$F'$  фактор**.

### Механизм и результаты конъюгации

**1 Перенос плазмиды *F*.** Происходит при автономном состоянии F фактора. От донора к реципиенту передается только плазмида F с частотой близкой к 100 %. Реципиент превращается в потенциального донора, донор сохраняет фактор F. Хромосомные признаки не передаются. Осуществляется следующим образом (рисунок 13):

а) **образование пары.** Столкновение донора и реципиента → прикрепление секс-пилей донора к поверхности реципиента, при этом контакт клеток происходит очень короткое время → образование конъюгационного мостика, защищающего передаваемую ДНК от действия нуклеаз окружающей среды;

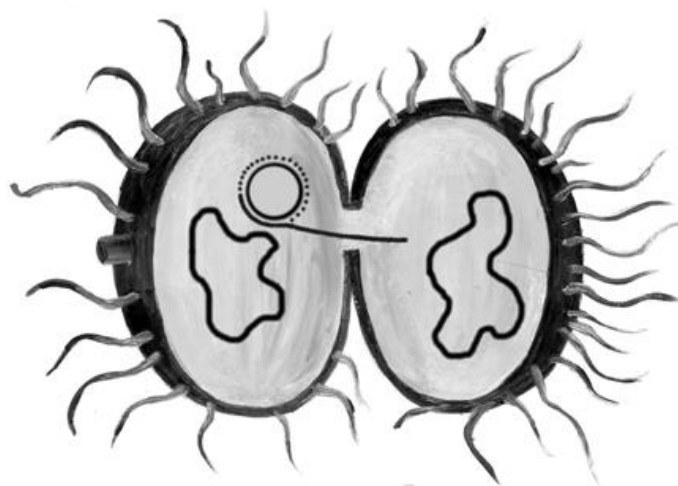


Рисунок 13 – Перенос плазмиды F

б) **перенос ДНК.** Происходит разрыв в определенном месте одной из цепочек F плазмиды. Разорванная цепь движется по конъюгационному мостику. В цитоплазме реципиента перенесенная цепочка ДНК достраивается второй, концы замыкаются.

**2 Перенос бактериальной ДНК за счет Hfr фактора** (рисунок 14). Происходит, если F фактор интегрирован в бактериальную хромосому. В результате такой конъюгации реципиент остается F<sup>-</sup>, донор остается Hfr, а перенос полной хромосомной ДНК донора или ее фрагмента происходит с высокой частотой. Так как перенос всей хромосомы *E. coli* продолжается при 37 °С около 100 мин, а время контакта клеток ограничено, то к реципиенту в большинстве случаев переходит не вся донорская ДНК, при этом Hfr фактор не попадает реципиенту.

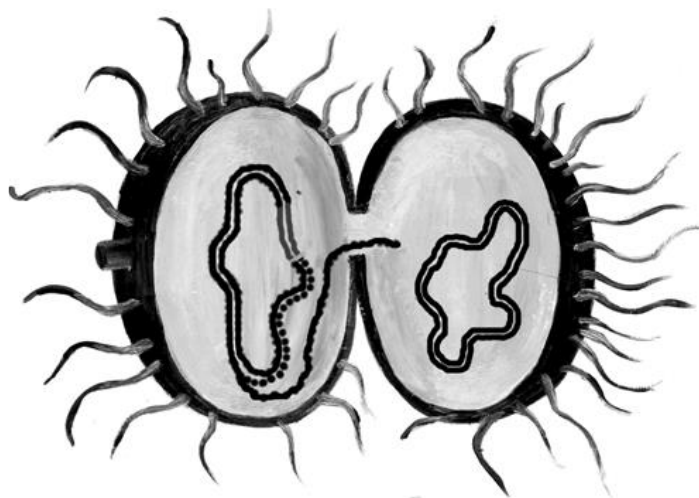


Рисунок 14 – Перенос ДНК в Hfr-состоянии

### **Механизм конъюгации:**

а) **образование пары;**

б) **перенос ДНК.** Происходит разрыв одной из цепочек перед местом расположения Hfr фактора, образуется репликативная вилка. Разорванная цепочка движется внутрь клетки-реципиента 5'-концом вперед. В последнюю очередь переносится Hfr фактор, поэтому он попадает реципиенту только после перехода всей хромосомы;

в) **сайтспецифическая рекомбинация.**

### **3 Перенос генов фактором F'**

Интеграция фактора F в бактериальную хромосому обратима. При правильном «вырезании» (эксцизии, выключении) фактора F из бактериальной хромосомы разрыв происходит исключительно по его краям, в редких случаях выключение происходит с захватом соседних участков бактериальной ДНК, что приводит к образованию фактора F'. Так как F и F' факторы передаются реципиентам с высокой частотой (100 %), то хромосомные гены с высокой частотой переносятся в клетку реципиента. Тот же самый фрагмент ДНК мог бы передаваться клеткой в состоянии Hfr штамму F<sup>-</sup> с максимальной частотой 1 %.

**Общая схема механизма передачи генетического материала при конъюгации** представлена на рисунке 15.

Перенос генетического материала от донора к реципиенту происходит только в том случае, когда образуются эффективные конъюгационные пары. Взаимное узнавание при контакте донорных и реципиентных клеток обеспечивают половые пили. Они прикрепляются к специфическим рецепторам, находящимся на поверхности реципиентных клеток. Благодаря способности половых пилей сокращаться, клетки донора и реципиента вступают в контакт «клеточная стенка к клеточной стенке», а затем между клетками возникает более сложное образование – конъюгационный мостик, по которому ДНК переходит из клетки-донора в клетку реципиента.

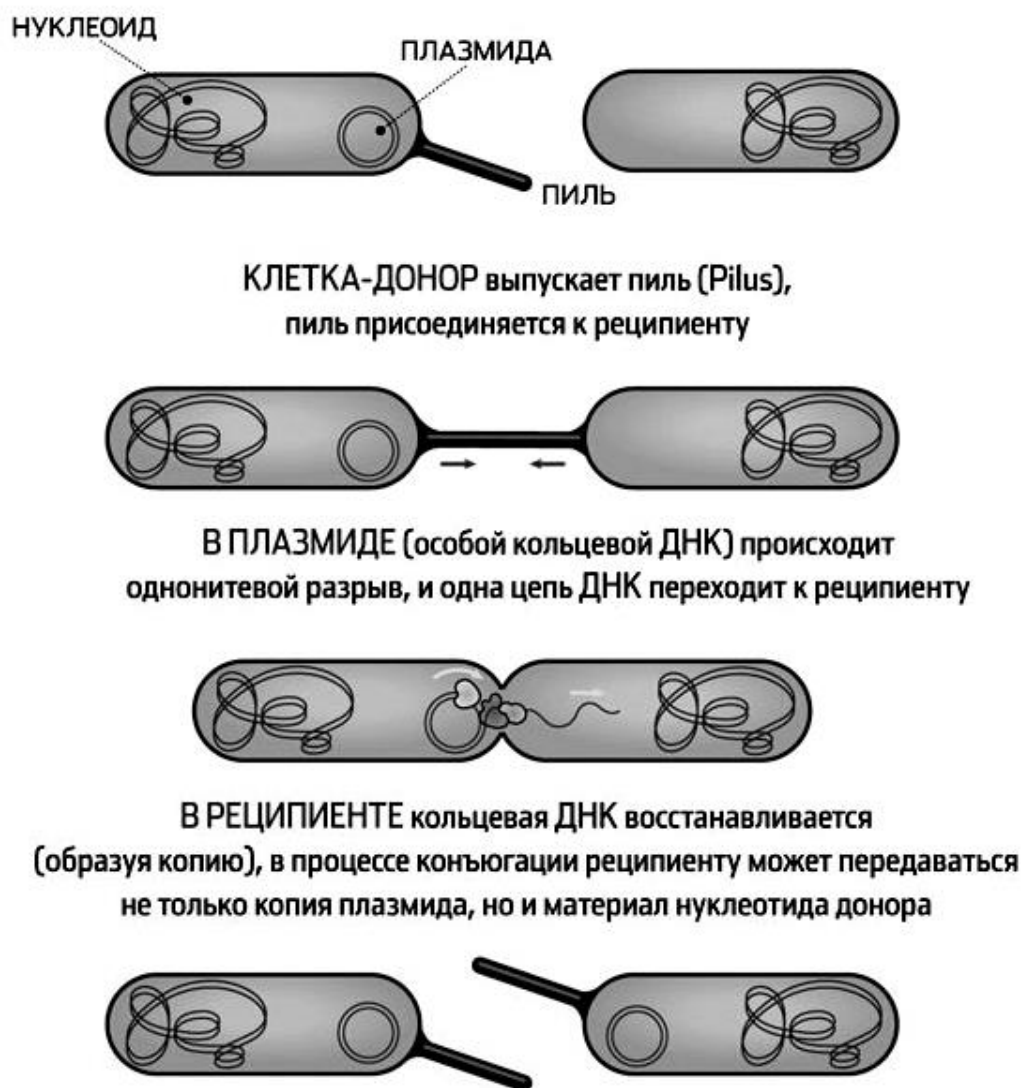
При конъюгации перенос генетического материала обеспечивается конъюгативными плазмидами, такими, например, как F-плазида у бактерий *E. coli*.

Конъюгативные плазмиды содержат tra-опероны, ответственные за перенос генетического материала. Ряд генов tra-оперонов определяет синтез половых пилей, другие отвечают за перенос самой плазмиды или мобилизацию переноса хромосомной ДНК из клетки в клетку.

Передача плазмиды или хромосомы начинается с одностороннего разрыва в области oriT плазмиды, которая называется точкой начала передачи.

Для того чтобы произошла передача хромосомных генов, плазида F (или другая конъюгативная плазида) должна интегрироваться

в хромосому. Разорванная в области *oriT* нить ДНК разматывается, и однонитевая ДНК, начиная с 5'-конца, переносится по конъюгационному мостику в реципиентную клетку. Одновременно на обеих нитях плазмидной и хромосомной ДНК – и той, которая остается в донорной клетке, и той, которая поступила в клетку-реципиент, – синтезируются комплементарные им нити. Благодаря этому в клетке-доноре восстанавливается целостность хромосомы и F-плазмиды.



1 – клетка-донор выпускает половой пиль; 2 – пиль прикрепляется к клетке-реципиенту, соединяя две клетки; 3 – в мобильной плазмиде происходит однонитевый разрыв, и одна цепь ДНК переходит в клетку-реципиент;  
4 – обе клетки достраивают вторую цепь ДНК плазмиды, восстанавливая двуцепочечную кольцевую плазмиду, и образуют половые пили.  
! Теперь обе клетки являются полноценными донорами

Рисунок 15 – Схематическое изображение конъюгации у бактерий

Заключительной стадией передачи F-плазмиды является восстановление ее исходной кольцевой структуры в клетке-реципиенте, а передачи хромосомной ДНК – рекомбинация ее с хромосомой реципиента.

Процесс переноса хромосомных генов при конъюгации может осуществляться также при участии содержащихся в хромосоме конъюгативных транспозонов. Такие транспозоны, кроме генов, отвечающих за транспозицию, и генов, детерминирующих фенотипические признаки, несут *tra*-гены, напоминающие соответствующие гены конъюгативных плазмид. Конъюгативные транспозоны могут выщепляться из хромосомы, образовывать плазмидоподобные структуры и, как и конъюгативные плазмиды, индуцировать перенос мелких плазмид в клетку партнера, а также сами переходить в нее.

Процессы конъюгации, особенно ведущие к передаче плазмид, очень широко распространены среди бактерий. Конъюгация – наиболее эффективный механизм для горизонтального переноса генов в любой среде обитания бактерий. Конъюгировать могут бактерии, весьма далекие в систематическом отношении. Плазмиды, осуществляющие конъюгацию между неродственными бактериями и успешно поддерживающиеся в них, называются плазмидами широкого круга хозяев. Конечно, интеграция переданной хромосомной ДНК в геном реципиента за счет гомологичной рекомбинации при межродовых скрещиваниях практически всегда исключается; однако у бактерий имеются «обходные пути», функционирующие за счет незаконной (или негомологичной) рекомбинации.

Количество переносимой ДНК при конъюгации больше, чем при трансформации и трансдукции. Размер перенесённой хромосомной ДНК зависит от времени, в течение которого две конъюгирующие бактерии находятся в непрерывном контакте. У ряда лабораторных штаммов кишечной палочки время переноса всей хромосомы в «мягких» (оптимальных для роста) условиях скрещивания составляет около 100 мин. Получаемые при этом способе обмена генетической информацией рекомбинанты называются **транskonъюганты**.

Таким образом, **в процессе конъюгации можно различить следующие стадии:**

- образование неэффективных пар;
- образование эффективных конъюгационных пар;
- перенос генетического материала из донорных клеток в реципиентные;
- постконъюгационный синтез донорной ДНК в реципиентной клетке;
- гомологичная рекомбинация перенесенного фрагмента донорной ДНК с ДНК реципиентной клетки.

**Как способ генетического обмена конъюгация используется в следующих направлениях:**

- 1 Передача генетических маркеров из одних клеток в другие.
- 2 Конъюгация эффективно происходит в природе и поэтому является важной составляющей адаптивных механизмов и изменчивости бактерий.

### **1.4.3 Трансдукция**

**Трансдукция** была открыта Дж. Ледербергом и Н. Циндером в 1952 году у *Salmonella typhimurium* и фага P22.

**Трансдукция** – перенос генетической информации (хромосомных генов или плазмид) от клетки-донора к клетке-реципиенту, который осуществляется при участии умеренных бактериофагов. При трансдукции фрагменты хромосомы или плазмиды должны упаковаться в головку бактериофага; выйти в составе этой фаговой частицы из клетки-донора в результате ее лизиса и попасть в другую клетку (клетку-реципиент) при новом акте заражения. Белковый капсид фаговой головки предохраняет находящуюся в ней ДНК от разрушения внеклеточными нуклеазами. В этом отношении трансдуцирующая ДНК более «сохранна», чем «голая» ДНК при трансформации. Поскольку адсорбция хвостового отростка фага на рецепторах поверхности клетки видоспецифична, то и перенос генетического материала при трансдукции может происходить, в основном, между близкородственными бактериями.

При трансдукции размеры переносимого фрагмента ДНК определяются размерами головки бактериофага. Различные фаги могут переносить фрагменты ДНК от 20 до 40 т. п. н. Таким образом, при трансдукции передаются как единичные гены, так и сцепленные маркеры.

Рекомбинанты, получаемые при данном способе обмена генетической информацией, называются **трансдуктантами**.

Трансдукцию осуществляют **умеренные фаги**. Они переносят лишь небольшой фрагмент генома клетки хозяина, и как правило, среди особей одного вида, но возможен и межвидовой перенос генетической информации, если бактериофаг имеет широкий спектр хозяев.

В зависимости от исхода взаимодействия фага с бактерией выделяют литические и умеренные фаги.

**Литические (вирулентные) фаги** впрыскивают нуклеиновую кислоту в клетку и репродуцируются в ней, после чего покидают клетку путем лизиса.

**Лизогенные или умеренные фаги**, инъецировав свою ДНК в клетку, могут вести двояко:

- 1) начать цикл репродукции и покинуть клетку путем лизиса;
- 2) интегрировать свою генетическую информацию в геном бактерии и в его составе передаваться дочерним клеткам.

Фаги, встроенные в геном бактерий, называют **профагами**, а бактерии со встроенными в геном фагами, – лизогенными. В результате действия факторов, прерывающих лизогению (УФ, ионизирующая радиация, химические мутагены), вновь синтезируются вирусные частицы, которые покидают клетку.

**Примером умеренного фага является фаг  $\lambda$** , поражающий *E. coli* с последующей интеграцией его ДНК в геном бактерий (пример специфической трансдукции). **Этапы его трансдукции:**

- 1 Адсорбция фага к рецепторам на поверхности *E. coli*.
- 2 Проникновение хвостовой части фага через клеточную стенку и инъекция ДНК в клетку-хозяина.

3 Рекомбинация кольцевой молекулы ДНК фага с ДНК хозяина и установление лизогении (фаговая ДНК находится в интегрированном состоянии).

4 Передача профага дочерним клеткам в процессе размножения *E. coli*. Чем больше делений, тем большее количество клеток содержит бактериофаг.

5 Окончание лизогении. ДНК бактериофага вырезается из бактериальной хромосомы. Происходит синтез вирусных белков и репликация ДНК фага, сопровождающиеся созреванием вирусных частиц и их выходом из клетки путем ее лизиса. Во время вырезания бактериофаг может захватывать близлежащие бактериальные гены, которые в последующем попадают в клетку реципиента.

6 Встраивание генома бактериофага, несущего бактериальные гены, в ДНК бактерии-реципиента. Изучение трансдукции показало, что одни фаги могут переносить разные бактериальные гены, а другие – только определенные.

В зависимости от места встраивания бактериофага выделяют следующие виды трансдукции:

а) **генерализованная (неспецифическая, общая)**. Бактериофаг может встраиваться в любом месте генома бактерии и потому способен переносить любой фрагмент ДНК хозяина (рисунок 16).



Рисунок 16 – Схема генерализованной трансдукции

При **генерализованной трансдукции** может переноситься любой бактериальный признак с частотой  $10^{-5}$ – $10^{-6}$ .

Количество бактериальной ДНК, которое может переноситься фагом, обычно составляет 1–2 % всей ДНК, содержащейся в клетке. Исключение составляет бактериофаг PBS1 *B. subtilis*, который может трансдуцировать до 8 % генома хозяина.

В осуществлении генерализованной трансдукции бактериальный вирус является лишь «пассивным» переносчиком генетического материала бактерий. Трансдуцирующие дефектные фаги содержат только фрагменты бактериальной ДНК.

В результате формируются трансдуцирующие фаговые частицы, которые при инфицировании других бактериальных клеток передают

ей ДНК донорских клеток. Между введенной ДНК и хромосомой реципиентной клетки возможна рекомбинация, в результате которой донорская ДНК может интегрироваться в хромосому. Таким образом, бактериальная клетка приобретает новые гены и изменяет свой генотип.

Особенностью горизонтальной передачи генов при помощи фагов является их устойчивость: фаги могут сохранять свою способность к инфицированию на протяжении многих лет даже в агрессивной внешней среде, в которой свободная ДНК деградирует. Фаги, как правило, обладают более узким спектром хозяев (по сравнению с плазмидами), что вероятно объясняется их зависимостью от наличия специфических рецепторов на инфицируемых клетках;

б) **специфическая (ограниченная).** Специфическая трансдукция характерна для фагов, способных интегрироваться в бактериальную хромосому (рисунок 17).

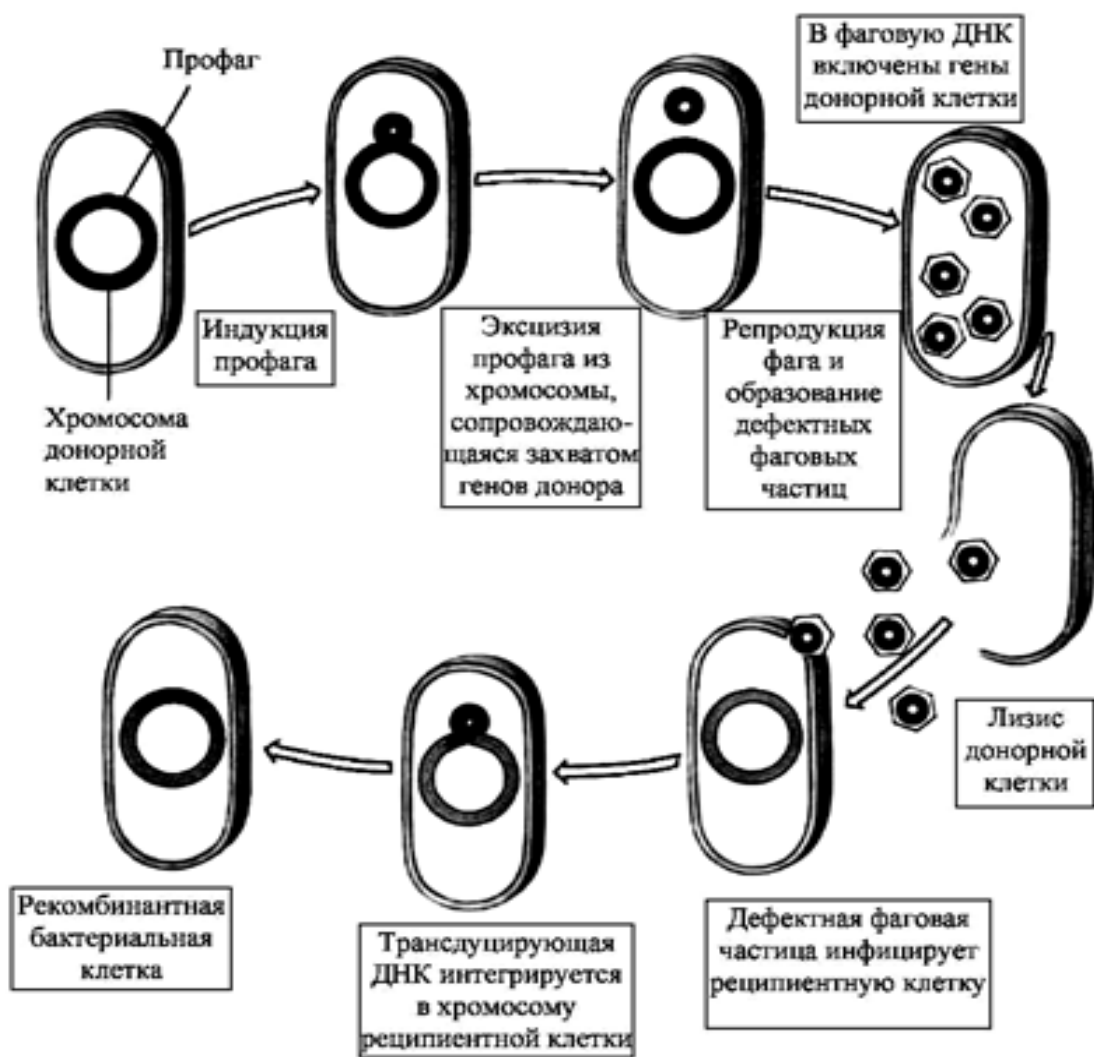


Рисунок 17 – Схема специфической трансдукции

Бактериофаг встраивается в строго определенные места генома бактерии, а потому переносит лишь строго определенные фрагменты ДНК.

Характерными особенностями **специфической трансдукции** являются:

- 1) каждый трансдуцирующий фаг передает только строго определенную, весьма ограниченную область бактериальной хромосомы;
- 2) фаг не только переносит генетический материал, но и обеспечивает его включение в бактериальную хромосому;
- 3) вирус включает ДНК бактерий в свой геном и передает ее, лизогенизируя бактерии-реципиенты.

**Трансдукция имеет практическое использование:**

- позволяет трансдуцировать плазмиды и короткие фрагменты хромосомы донора;
- для конструирования штаммов заданного генотипа, в частности изогенных штаммов. Изогенные штаммы, сконструированные при помощи генерализованной трансдукции, различаются только по участку хромосомы, переносимому трансдуцирующим фагом;
- в природных условиях выполняет важную роль в эволюции и адаптации бактерий к изменяющимся условиям среды обитания, кодируя факторы патогенности, симбиотического «стиля жизни», резистентности к тяжёлым металлам и антибактериальным веществам.

## Вопросы для самоконтроля

- 1 Опишите генетический аппарат бактерий.
- 2 Дайте общую характеристику плазмидам бактерий.
- 3 Определите понятие «мобильные генетические элементы», опишите их основные свойства, функции, значение.
- 4 Дайте классификацию мутаций.
- 5 Какие процессы могут происходить в клетке-реципиенте после попадания вовнутрь нее донорной ДНК и перехода в состояние мерозиготы?
- 6 Что такое процесс трансформации? Какие стадии он включает?
- 7 Перечислите основные стадии процесса конъюгации.
- 8 Охарактеризуйте процесс трансдукции. Чем отличается специфическая трансдукция от генерализованной?

## Практическое занятие

**Цель:** изучение основных способов горизонтального переноса генов у бактерий; выявление общих и отличительных особенностей процессов трансформации, конъюгации и трансдукции.

**Материалы и оборудование:** протокол занятия, демонстрационные схемы (рисунки): а) мерозиготы; б) процесса трансформации; в) механизма бактериальной конъюгации; г) F-плазмиды бактерий *E. coli*; д) генерализованной трансдукции; е) специфической трансдукции; электронная микрофотография конъюгирующих клеток *E. coli*; цветные карандаши.

## Ход работы

В протоколе занятия:

1 Дать общую характеристику способам горизонтального переноса генов у бактерий: указать три основных способа горизонтального переноса генов, их общие особенности.

2 Нарисовать схему мерозиготы и показать два пути ее развития.

3 Охарактеризовать процесс трансформации согласно схеме описания: понятие трансформации, история открытия, этапы процесса трансформации, компетентность, практическое использование.

4 Составить графологическую схему «Стадии процесса трансформации», отразив в этой схеме по отдельности процесс трансформации: а) плазмидной ДНК; б) бактериальной ДНК.

5 Охарактеризовать процесс конъюгации согласно схеме описания: понятие конъюгации, история открытия, этапы процесса конъюгации, количество переносимой ДНК при конъюгации, практическое использование.

6 Составить графологическую схему «Передача генетического материала при конъюгации», отразив в этой схеме по отдельности участие в качестве клеток-доноров: а) F<sup>+</sup>-доноров; б) доноров Hfr-типа.

7 Охарактеризовать процесс трансдукции согласно схеме описания: понятие трансдукции, история открытия, этапы процесса трансдукции, количество переносимой ДНК при трансдукции, типы трансдукции, практическое использование.

8 Составить графологические схемы «Генерализованная трансдукция», «Специфическая трансдукция». Обратить внимание на существенные отличия между этими двумя типами трансдукции.

## ЛИТЕРАТУРА

1 Гусев, М. В. Микробиология : учебник / М. В. Гусев, Л. А. Минеева. – М. : Академия, 2010. – 462 с.

2 Лысак, В. В. Микробиология : учебник / В. В. Лысак. – Минск : “Адукацыя і выхаванне”, 2025. – 414 с.

3 Микробиология : учебно-методический комплекс / сост. И. И. Концевая. – Гомель : ГГУ имени Ф. Скорины, 2015. – 392 с. – Режим доступа : <http://elib.gsu.by/jspui/handle/123456789/38870>. – Дата доступа : 21.12.2025.

4 Микробиология : учебник / А. П. Дуктов [и др.]. – Тюмень : ГАУ Северного Зауралья, 2024. – 442 с. – Режим доступа : <https://e.lanbook.com/book/453389>. – Дата доступа : 21.12.2025.

5 Мустафина, Р. Н. Роль мобильных генетических элементов в возникновении жизни / Р. Н. Мустафина // Успехи физиологических наук. – 2019. – Том 50, № 3. – С. 45–64.

6 Сидоренко, О. Д. Микробиология : учебник / О. Д. Сидоренко. – 2-е изд., перераб. и доп. – М. : ИНФРА-М, 2024. – 368 с. – Режим доступа : <https://znanium.ru/catalog/product/2122973>. – Дата доступа : 21.12.2025.

Производственно-практическое издание

**Концевая Ирина Ильинична**

**МИКРОБИОЛОГИЯ:  
ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ИЗМЕНЧИВОСТИ  
У БАКТЕРИЙ**

Практическое пособие

Редактор Е. С. Балашова  
Корректор В. В. Калугина

Подписано в печать 12.02.2026. Формат 60х84 1/16.

Бумага офсетная. Ризография.

Усл. печ. л. 2,56. Уч.-изд. л. 2,80.

Тираж 10 экз. Заказ 61.

Издатель и полиграфическое исполнение:

учреждение образования

«Гомельский государственный университет имени Франциска Скорины».

Специальное разрешение (лицензия) № 02330 / 450 от 18.12.2013 г.

Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя,  
распространителя печатных изданий в качестве:

издателя печатных изданий № 1/87 от 18.11.2013 г.;

распространителя печатных изданий № 3/1452 от 17.04.2017 г.

Ул. Советская, 104, 246028, Гомель.



